

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ «НАПІВТОНКИХ ЗРІЗІВ» ДЛЯ ВИВЧЕННЯ СТРУКТУРИ ЗРАЗКІВ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В ЕЛЕКТРОННІЙ МІКРОСКОПІЇ

Цимбал М. С., Бончев С. Д.

Науковий керівник – проф. Сікора В. З.

Сумський державний університет, кафедра анатомії людини

Вивчення структури напівтонких зрізів незамінний метод морфологічних досліджень. Для того, щоб електронномікроскопічне дослідження досягло своїх прямих цілей (вивчення ультраструктури) майже завжди необхідно проводити вивчення напівтонкого зріза виготовленого препарата. Це дозволяє більш точно та прицільно оцінити топографію досліджуваного об'єкта на тканинному та клітинному рівнях, розширити границі дослідження, використати кольорове фарбування та раціонально вибрати ділянку для виготовлення ультратонких зрізів.

Тому, метою нашої роботи стало уніфікування простого методу отримання напівтонкого зрізу та його фарбування з використанням мінімального часу.

Як відомо, при заливанні зразків в епоксидну смолу компоненти тканин зберігаються краще, ніж при заливанні їх у парафін. Це дозволяє отримувати дуже якісні гістологічні зразки. Але, якість зразків, насамперед, залежить від якості смоли, специфікації ультрамікротома та якості фарбників.

В першу чергу епоксидний блок піддають заточуванню з формуванням усіченої піраміди, при чому, з найменшим травмуванням та зменшенням зразка. Далі на ультратомі виставляємо товщину зрізання 1 мкм на швидкості 2,5 мм/с. Після первинного тримінгу блока, як почнуть утворюватися перші якісні зрізи ми переносимо їх із сухого ножа на краплю води за допомогою пінцета з тоненькими губками.

Перед фарбуванням попередньо протравлюємо зрізи у 3 % розчині пероксиду водню протягом 5 хвилин і видаляємо залишки рідини зі зрізу фільтрувальним папером.

Найпростішим методом фарбування є нанесення на поверхню зрізів краплі 1 % розчину метиленового синього, але цей метод не дає потрібного контрасту. В нашій лабораторії ми використовуємо складні барвники, що складаються з 2-х розчинів (розчину А, розчину Б). Розчин А складається з: метиленовий синій – 0,13 г, азур II – 0,02 г, гліцерин – 10 мл, метанол – 10 мл, фосфатний буфер – 30 мл, вода – 50 мл. Розчин Б складається з: фуксин основний – 0,1 г, спирт етиловий – 10 мл, вода – 90 мл. Зрізи фарбують 20-30 хвилин в розчині А з нагрівом до 60° С, далі промивають водою и дофарбовують 1-3 хвилини в розчині Б з наступним промиванням водою.

Мікроскопічна картина виглядає наступним чином: ядра та органели зафарбовані в темно-синій колір, цитопlasма має світло-фіолетове забарвлення.

Таким чином приведений методи можна рекомендувати молодим дослідникам, як один з методів морфологічного дослідження структури тканин.